

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)(19) Organisation Mondiale de la Propriété
Intellectuelle
Bureau international(43) Date de la publication internationale
24 juin 2004 (24.06.2004)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2004/052836 A1

- (51) Classification internationale des brevets⁷ : C07C 229/22, 227/32, 239/18, C07D 307/66, C07C 227/32, 229/22, C07D 307/66
- (21) Numéro de la demande internationale : PCT/FR2003/003542
- (22) Date de dépôt international : 1 décembre 2003 (01.12.2003)
- (25) Langue de dépôt : français
- (26) Langue de publication : français
- (30) Données relatives à la priorité : 02/15165 2 décembre 2002 (02.12.2002) FR
- (71) Déposants (*pour tous les États désignés sauf US*) : CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE [FR/FR]; 3, Rue Michel Ange, F-75794 Paris (FR). UNIVERSITE LOUIS PASTEUR [FR/FR]; 11, Rue Silbermann, F-67000 Strasbourg (FR).
- (72) Inventeurs; et
- (75) Inventeurs/Déposants (*pour US seulement*) : MIOSKOWSKI, Charles [FR/FR]; 14, Rue Baudelaire, F-67200 Strasbourg (FR). WAGNER, Alain [FR/FR]; 10, Rue de Belfort, F-67100 Strasbourg (FR). DE LAMO MARIN, Sandra [FR/FR]; 3, Rue de Berne,
- (74) Mandataires : PEAUCELLE, Chantal etc.; Cabinet Armengaud Aine, 3, Avenue Bugeaud, F-75116 Paris (FR).
- (81) États désignés (*national*) : AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (84) États désignés (*régional*) : brevet ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), brevet eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

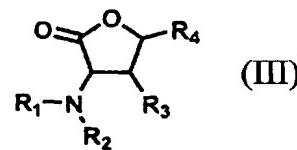
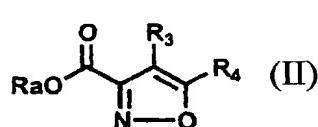
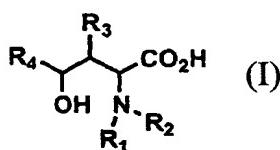
Publiée :

- avec rapport de recherche internationale
- avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si des modifications sont reçues

[Suite sur la page suivante]

(54) Title: METHOD FOR PREPARING 4-HYDROXYISOLEUCINE DIASTEREOISOMERS AND ENANTIOMERS AND DERIVATIVES THEREOF

(54) Titre : PROCEDE DE PREPARATION DE DIASTEREOISOMERES ET D'ENANTIOMERES DE LA 4-HYDROXYISOLEUCINE ET DE SES DERIVES



WO 2004/052836 A1

(57) Abstract: The invention concerns a method for preparing 4-hydroxyisoleucine diastereoisomers and enantiomers and derivatives thereof of general formula (I), characterized in that it consists in reducing an isoxazole derivative of formula (II) in conditions directly resulting in the derivatives of formula (I), or in obtaining at least a lactone of structure (III) in racemic form(s), or a enantiomerically enriched mixture, followed by opening, in basic conditions, in an aprotic or protic solvent, the desired lactone(s) and, optionally, separating the desired form. The invention is useful for preparing in particular (2S, 3R, 4S)-4-hydroxyisoleucine.

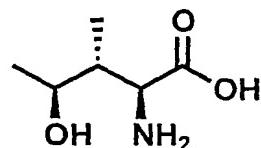
(57) Abrégé : L'invention a pour objet un procédé de préparation de diastéréoisomères et d'enantiomères de la 4-hydroxyisoleucine et de ses dérivés de formule générale (I) caractérisé en ce qu'il comprend la réduction d'un dérivé d'isoxazole de formule (II) dans des conditions conduisant directement aux dérivés de formule (I), ou à l'obtention d'au moins une lactone de structure (III) sous forme(s) racémique(s), ou d'un mélange énantiométriquement enrichi, suivie de l'ouverture, en conditions basiques, dans un solvant aprotique ou protique, de la lactone ou des lactones recherchées et, si nécessaire, de la séparation de la forme recherchée. Application à la préparation, en particulier, de la (2S, 3R, 4S)-4-hydroxyisoleucine.



En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abréviations, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de la Gazette du PCT.

"Procédé de préparation de diastéréoisomères et d'énanthiomères de la 4-hydroxyisoleucine et de ses dérivés"

L'invention a pour objet un procédé de préparation de 5 diastéréoisomères et d'énanthiomères de la 4-hydroxyisoleucine et de ses dérivés, ce terme couvrant les analogues pouvant être obtenus par le procédé de l'invention. Elle vise en particulier la préparation de la (2S, 3R, 4S)-4-hydroxyisoleucine (4-OH-iLeu en abrégé).
10 La 4-OH-iLeu est un produit naturel isolé de la graine de fénugrec, qui répond à la formule A :



A

15 Ce produit est actif en particulier contre le diabète de type II, mais les quantités que l'on peut obtenir par extraction sont insuffisantes pour suppléer aux besoins des populations atteintes par ce type de diabète. On mesure donc l'intérêt d'une synthèse totale qui permettrait de remédier à ce manque.
20

Plusieurs procédés ont été proposés à ce jour, mais ils se sont toutefois révélés non exploitables à l'échelle industrielle.

Les inventeurs ont réussi à surmonter ce problème et à 25 développer un procédé comportant un nombre réduit d'étapes, grâce au choix de produits réactionnels et de conditions opératoires déterminés.

Ce procédé permet d'obtenir les diastéréoisomères et les énanthiomères de la 4-hydroxyisoleucine et de ses dérivés avec 30 des rendements élevés. En particulier, la 4-OH-iLeu est

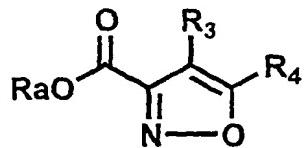
obtenue avec des rendements pouvant dépasser 40%. Avantageusement ce procédé permet également de synthétiser des dérivés de la 4-hydroxyisoleucine.

L'invention a donc pour but de fournir un procédé économique
5 de synthèse d'acides aminés α de formule générale I



I

10 dans laquelle R_1 et R_2 représentent
.un atome d'hydrogène, ou
.l'un de R_1 ou R_2 représente un atome d'hydrogène et l'autre substituant est un radical R_a , un groupe acyle $-\text{COR}_a$, notamment acétyle, ou encore un groupe fonctionnel $-\text{COOR}_a$, $-\text{SO}_2\text{R}_a$, $-\text{N}(\text{R}_a, \text{R}_b)$, R_a et R_b , identiques ou différents, étant un radical alkyle linéaire ou ramifié en C1-C12, le cas échéant substitué, un groupe aryle à un ou plusieurs cycles aromatiques, comportant 5 à 8C, le cas échéant substitué, ou aralkyle, le substituant alkyle et le groupe aryle étant comme défini ci-dessus, ou
15 R_1 et R_2 représentent tous deux un substituant tel que défini ci-dessus,
20 caractérisé en ce qu'il comprend la réduction d'un dérivé d'isoxazole de formule II



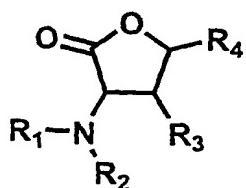
II

dans laquelle

- R_a est tel que défini ci-dessus, et
- R_3 représente un atome d'hydrogène ou R_a , et

5 . R_4 présente les significations de R_a , à l'exception d'un atome d'hydrogène,

dans des conditions conduisant directement aux dérivés de formule I, ou à l'obtention d'au moins une lactone de structure III



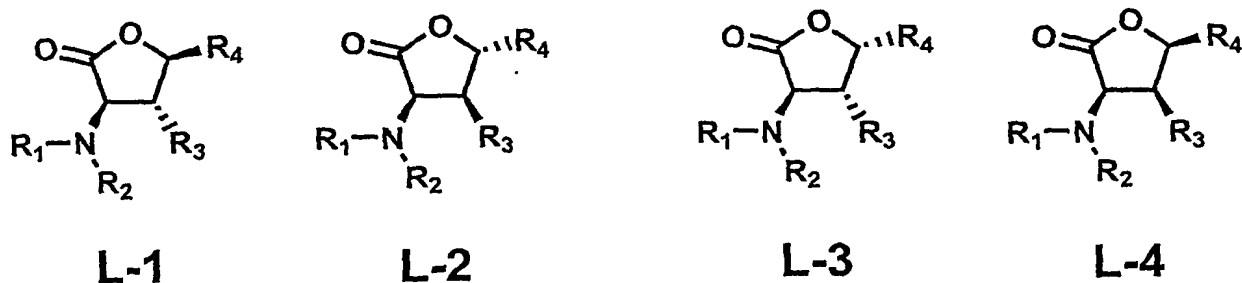
10

III

sous forme(s) racémique(s), ou d'un mélange énantiomériquement enrichi suivie de l'ouverture, en conditions basiques, dans un solvant aprotique ou protique, de la lactone ou des lactones recherchées et, si nécessaire, de la séparation de la forme recherchée.

Une méthode de choix pour l'ouverture du cycle lactone 20 comprend l'utilisation de LiOH dans THF.

Selon un mode préféré de réalisation de l'invention, ladite lactone de structure III est obtenue par réduction dudit dérivé d'isoxazole de formule II, conduisant à l'obtention 25 d'un mélange renfermant 4 lactones L-1, L-2, L-3 et L-4 :



On notera que dans le cas où R_3 représente un atome d'hydrogène dans l'isoxazole de formule II, on introduit ultérieurement un 5 groupement R_a au niveau des produits intermédiaires obtenus.

Selon une variante de réalisation, on procède à la séparation de la lactone ou des lactones recherchées sous forme racémique ou énantiomériquement pure.

10 Selon les catalyseurs et les conditions utilisées, on peut favoriser l'obtention de l'une des lactones et/ou de l'un des énantiomères. Des exemples sont donnés à titre illustratif dans la partie expérimentale.

15 Conformément à l'invention, les différentes lactones dans lesquelles R_1 et/ou R_2 représentent un atome d'hydrogène peuvent être substituées notamment alkylées, carbamylées, sulfonylées, acylées, notamment acétylées. On utilise à cet effet, en particulier, un agent d'alkylation, de 20 carbamylation, de sulfonylation ou d'acylation approprié, avantageusement de l'anhydride acétique pour synthétiser les dérivés acétylés.

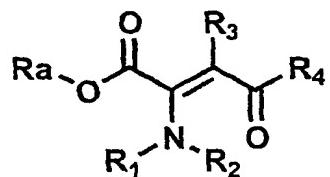
Selon une variante d'obtention des dérivés d'acides aminés α 25 de structure I de l'invention, on procède à la réduction d'une isoxazole de formule II dans laquelle OR_a représente un groupe hydrogénolysable, tel que le groupe benzyle. Cette étape de réduction est réalisée en milieu basique lorsque R_a est différent d'un groupe benzyle.

Les produits intermédiaires formés lors de l'étape de réduction du dérivé d'isoxazole de formule II peuvent être isolés si on le souhaite. Comme indiqué ci-dessus en rapport avec les lactones, les produits dans lesquels R₁ et/ou R₂ 5 représentent un atome d'hydrogène peuvent être substitués notamment alkylées, carbamylées, sulfonylées, acylées, notamment acétylées. On utilise à cet effet, en particulier un agent d'alkylation, de carbamylation, de sulfonylation ou d'acylation approprié, avantageusement de l'anhydride acétique 10 pour synthétiser les dérivés acétylés. Il est important de noter qu'en fonction du catalyseur utilisé, il est possible d'enrichir le produit en une forme diastéréoisomère et/ou énantiomère donnée.

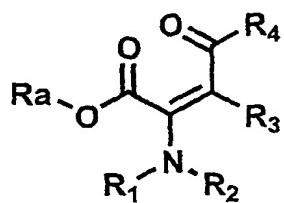
15 Selon les conditions opératoires mises en œuvre, désignées ci-après par C-SH, C-SC, C-SE, ou C-SH suivie de C-HC ou de C-HE, ces produits sont différents (voir figure 1).

Ainsi, selon les conditions C-SH, on opère par exemple dans un 20 milieu éthanol/eau, auquel on ajoute une solution de NiR dans l'éthanol et le dérivé d'isoxazole de formule II et on purge à l'hydrogène.

Le milieu réactionnel est ensuite agité sous une pression 25 d'hydrogène de l'ordre de 1 atmosphère à température ambiante, ce qui conduit aux dérivés IV et V, ces derniers pouvant être isolés, par exemple par chromatographie sur silice avec un rendement de l'ordre de 80%.

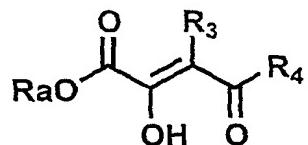


IV



V

- 5 Une variante de l'invention permet d'obtenir les composés de formules IV et V, directement à partir du composé de structure VI :



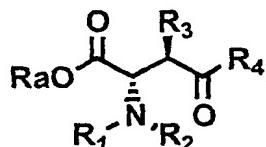
VI

- 10 par réaction avec l'amine de formule $\text{NH}(\text{R}_1, \text{R}_2)$, avantageusement en présence d'un catalyseur acide et d'un agent de déshydratation.

- 5 On récupère le mélange des 4 lactones L-1, L-2, L-3 et L-4 et on isole la lactone recherchée si souhaité.

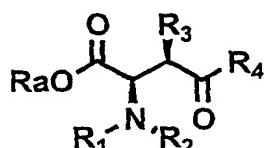
Un exemple de réalisation de l'invention consiste à favoriser la formation de la lactone L-1 en conduisant la réduction dans un mélange NiR/DABCO dans l'éthanol, alors que les produits C1-C2 sont obtenus directement si la réaction est conduite 5 dans un système tel que, Pd/C/DABCO dans de l'éthanol ou Pd/C/triéthylamine dans de l'éthanol.

En variante, les composés C-1 et C-2



C-1

10



C-2

peuvent être obtenus selon les conditions C-HC, en soumettant, à l'issue de l'étape C-SH, 15 v à l'action d'un catalyseur de réduction et dans un solvant, en présence d'une source d'hydrogène, par exemple le Pd/C dans l'éthanol, en présence d'hydrogène. On obtient un mélange C-1/C-2 de l'ordre de 70/30 avec un rendement d'environ 55%.

20 Le mélange de lactones recherché peut alors être obtenu par la voie C-CL.

- Pour obtenir majoritairement la lactone L-2, on soumet avantageusement C-1 dans l'éthanol à l'action NaBH₄. La lactone 25 peut ainsi être obtenue avec un rendement de l'ordre de 75%, le restant représentant la lactone L-4.

En opérant avec un mélange d'éthanol et d'eau, auquel on ajoute une solution de catalyseur, par exemple du NiR dans l'éthanol et C-1, on peut former de manière prépondérante la lactone L-4. Selon des conditions de traitement avantageuses, 5 on porte le mélange réactionnel à 0°C, on le purge à l'hydrogène, puis on le soumet à agitation sous pression d'hydrogène. Le mélange des 4 lactones L-1, L-2, L-3 et L-4 est obtenu de manière quantitative. La lactone L-4 peut être isolée, par exemple par HPLC, avec un rendement de 75% environ, le restant étant essentiellement formé par la lactone 10 L-2.

La lactone L-3 peut être obtenue de manière majoritaire, en opérant comme indiqué ci-dessus, mais en utilisant C-2. La 15 lactone L-3 peut être alors isolée, par exemple par HPLC, avec un rendement de 75% environ, le restant étant essentiellement formé par la lactone L-1.

En variante, les composés E-1 et E-2 peuvent être obtenus 20 selon les conditions C-HE.

Ainsi, la synthèse de E-2 peut être réalisée à partir de IV ou de V, avec des rendements d'au moins 90%. On utilise, avec avantage, à cet effet, un milieu réactionnel contenant un 25 catalyseur de réduction homogène, tel que [Ru(p-cym)₂Cl₂], un ligand chiral ou achiral, notamment un ligand tosylé, tel que TsDPEN (monotosyldiphényléthylènediamine), un solvant organique, de la triéthylamine et une source d'hydrogène, par exemple l'isopropanol ou l'acide formique.

30

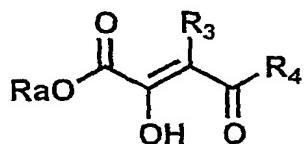
Le dérivé E-2 est alors obtenu avec un rendement de l'ordre de 90%.

On peut également synthétiser E-1 ou E-2 à partir, respectivement, de V et de IV, par réduction dans un mélange éthanol/eau, en présence de NaBH₄ et de CeCl₃.7H₂O. Les produits recherchés sont obtenus avec des rendements de 5 l'ordre de 95%.

Les lactones L-1 et L-4 sont obtenues de manière majoritaire, respectivement, par réduction à partir de E-2 et de E-1. De manière préférée, E-2 est placé dans l'éthanol avec du NiR 10 sous hydrogène, à pression atmosphérique. L-1 est obtenue avec des rendements d'environ 75%, le restant étant constitué par les autres lactones L-2, L-3 et L-4. Pour obtenir majoritairement L-4, on opère comme précédemment, mais à partir de E-1 et le rendement est égal à 85%.

15

Conformément à un mode préféré de réalisation de l'invention, le dérivé d'isoxazole de formule II est obtenu par réaction d'une hydroxylamine avec un dérivé d'acide 4-céto-2-hydroxy-2-buténoïque de formule VI :

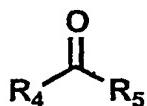
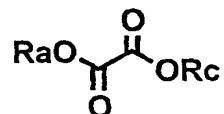


VI

L'hydroxylamine est utilisée plus spécialement sous forme de 25 sel et la réaction est réalisée à température ambiante.

Dans le mode préféré de réalisation de l'invention, le dérivé d'acide 4-céto-2-hydroxy-2-buténoïque est obtenu par condensation d'une cétone VII et d'un dérivé d'oxalate VIII :

0

**VII****VIII**

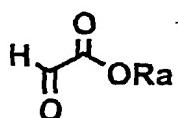
5

Dans ces formules, R_5 représente un radical alkyle, tel qu'éthyle ou méthyle, alkylaryle, vinyle, ou vinyle substitué, R_4 et R_a sont tels que définis ci-dessus, R_c présente les significations données par R_a et peut être est identique ou différent de R_a .

Dans une variante de réalisation de l'étape de condensation, on utilise, comme cétone, la 2-butanone. Le dérivé de l'acide 4-céto-2-hydroxy-2-buténoïque conduisant à la 4-hydroxyisoleucine est alors obtenu en mélange avec notamment un dérivé de l'acide hex-2-énoïque, ces composés étant séparés au cours d'une étape ultérieure.

20 Dans une autre variante préférée de réalisation de l'étape de condensation, la cétone utilisée est l'acétone ($\text{R}_4=\text{R}_5=\text{CH}_3$), ce qui conduit au dérivé d'acide 4-céto-2-hydroxy-2-buténoïque de formule VI, dans laquelle R_3 est un atome d'hydrogène et R_4 représente CH_3 . Ce composé est ensuite fonctionnalisé, 25 notamment par réaction d'alkylation, en présence de bases et d'un agent alkylant.

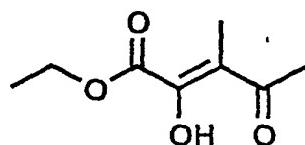
Dans encore une autre variante préférée, l'acide 4-céto-2-hydroxy-2-buténoïque de formule VI ($R_3=R_4=CH_3$) est obtenu en opérant selon la réaction de Baylis-Hillmann, en faisant réagir la méthylvinylcétone sur un glyoxalate IX, suivie soit 5 d'une étape d'isomérisation, soit de réduction de la double liaison puis de l'oxydation de la fonction OH.



IX

10

Le produit de condensation formé est isomérisé en composé X, en présence de catalyseurs de métaux de transition.



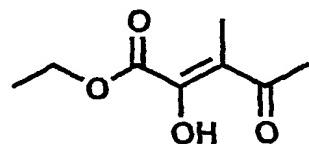
X

15

Les produits intermédiaires suivants sont des produits nouveaux et, à ce titre, entrent dans le champ de l'invention: il s'agit des produits de formules IV et V, dans lesquels l'un de R_1 et R_2 représente H, l'autre étant différent de H, ceux 20 correspondant à C-1 et C-2, tels que définis ci-dessus, quel que soit R_1 et R_2 , et les composés E-1 et E-2 dans lesquels les substituants sont tels que définis ci-dessus en rapport avec les composés IV et V.

5 dans lesquels R représente R_1 ou R_2 , et les produits E-1 et E-2', dans lesquels R représente R_1 ou R_2 , mais diffère de H.

L'invention vise tout particulièrement l'obtention de la 4-OH-
iLieu de formule A selon un procédé comprenant les étapes de
a) synthèse d'un ester d'acide pent-2-ènoïque de formule X

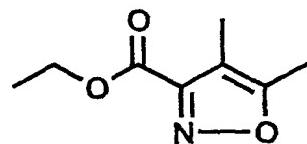


X

5

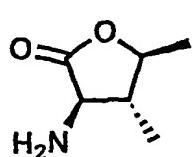
soit par réaction de la 2-butanone avec l'oxalate d'éthyle,
soit par condensation de la méthylvinylcétone avec le
glyoxalate d'éthyle, suivie, sans purification, d'une
10 réaction d'isomérisation ou d'une séquence
réduction/oxydation;

b) l'ester d'acide pent-2-ènoïque obtenu réagit avec de
15 l'hydroxylamine pour former le dérivé d'isoxazole de
formule XI,

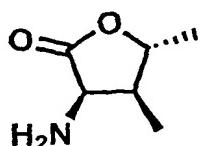


XI

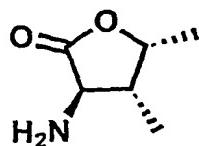
c) la réduction du dérivé d'isoxazole obtenu pour conduire à
20 aux lactones 1-1 à 1-4,



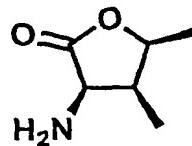
I-1



I-2



I-3



I-4

5 d) la séparation de la lactone I-1 à I-4 sous forme racémique, suivie de

e) la séparation de l'énanthiomère, conduisant au composé A par ouverture de la lactone, et de

10 f) l'ouverture du cycle lactone.

D'autres caractéristiques et avantages de l'invention seront donnés dans les exemples qui suivent en se reportant aux figures 1 et 2, qui représentent, respectivement, les schémas réactionnels illustrant les variantes opératoires pour obtenir à partir du dérivé d'isoxazole de formule III :

- les lactones L-1 à L-4,
- les lactones I-1 à I-4,

20 Exemple 1 : Synthèse des dérivés de l'acide pent-2-ènoïque de formule X

Par fonctionnalisation d'un produit de condensation d'un anion dérivé de la butanone avec le diéthyloxalate

25 Une solution d'éthanolate de sodium est préparée en faisant réagir du sodium métallique (6,05 g, 260,00 mmol, 1,2 éq) dans de l'éthanole anhydre (360 mL) à température ambiante jusqu'à consommation totale du sodium métallique. De la butanone (20,00 mL, 220,00 mmol, 1,0 éq) est ensuite additionnée goutte

à goutte à température ambiante. Après 1 heure de réaction à température ambiante, du diéthyloxalate (60,00 mL, 440,00 mmol, 2,0 éq) est additionné avec un goutte à goutte rapide à température ambiante. Après 5 minutes de réaction, le milieu réactionnel est concentré puis séché sous vide. Le brut réactionnel est dilué avec une solution aqueuse saturée en NaCl (800 mL), puis la phase aqueuse est extraite avec de l'acétate d'éthyle (3x900 mL). La phase aqueuse est ensuite diluée dans de l'acétate d'éthyle (900 mL). La phase aqueuse est acidifiée jusqu'à pH 6 avec une solution de HCl 1N, sous vive agitation magnétique. La phase organique est séparée et la phase aqueuse est extraite à l'acétate d'éthyle (3x900 mL). Les phases organiques sont rassemblées, séchées sur MgSO₄ puis concentrées sous vide. Le brut réactionnel est séché sous vide pour donner avec un rendement isolé de 30 % un mélange 90 : 10 de 2-hydroxy-3-méthyl-4-oxo-pent-2-énoate d'éthyle et de 2-hydroxy-4-oxo-hex-2-énoate d'éthyle, ainsi qu'un produit de structure non déterminée dont la réactivité est identique à celle du produit X (m=11,4 g).

- 20
- Le dérivé de l'acide héxénoïque formé est séparé du composé X par lavage à NaCl(sat), puis extraction à l'acétate d'éthyle.

25 Le produit X est récupéré après acidification de la phase aqueuse à pH 6, puis extraction à l'acétate d'éthyle.

 - Rendement en composé X après lavages : 30 %.

Par fonctionnalisation d'un produit de condensation de l'anion dérivé de l'acétone avec le diéthyloxalate

0 L'acétone a été condensée sur le diéthyloxalate en milieu basique. Les groupements azoté et le méthyle sont introduits ultérieurement.

Le composé de formule VI dans laquelle R_a = CH₂CH₃, R₃ = H et R₄ = CH₃ est fonctionnalisé avec le chlorhydrate de l'hydroxylamine pour donner le composé IV dans lequel R_a = CH₂CH₃, R₁ = H, R₂ = OH, R₃ = H et R₄ = CH₃, qui est ensuite soumis à une réaction de méthylation pour conduire au même composé, mais avec R₃ = CH₃.

2-Hydroxy-4-oxo-pent-2-ènoate d'éthyle

10

Dans un ballon tricol de 2 litres, muni d'une ampoule à addition et d'un agitateur à palette est préparé une solution d'éthanolate de sodium, en faisant réagir du sodium métallique (7,74 g, 340,00 mmol, 1,2 éq) dans de l'éthanol anhydre (800 mL) à température ambiante jusqu'à consommation totale du sodium métallique. Une solution de diéthyloxalate (37,20 mL, 280,00 mmol, 1,0 éq) dans l'acétone (10,30 mL, 280,00 mmol, 1,0 éq) est ensuite additionnée goutte à goutte à température ambiante. Le milieu réactionnel est maintenu sous vive agitation pendant 2 heures. Le milieu réactionnel est ensuite concentré sous vide. Le brut réactionnel est dilué dans de l'eau (200 mL). On y ajoute de la glace (100 g), puis de l'acide sulfurique concentré (28 mL) par petites portions jusqu'à obtention d'une solution limpide orange. La phase aqueuse ainsi obtenue est extraite avec de l'acétate d'éthyle (3x300 mL). Les phases organiques sont rassemblées, séchées sur MgSO₄ puis concentrées sous vide. Le brut réactionnel est séché sous vide pour donner quantitativement le produit attendu (m=44,71 g).

30

Par réaction de Baylis-Hillmann de la méthylvinylcétone sur le glyoxalate d'éthyle

Le composé de condensation est soumis à une étape de réduction de la double liaison, suivie, sans purification, de l'oxydation de la fonction hydroxyle.

5

CONDENSATION

A une solution de méthylvinylcétone (5 mL, 50 mmol, 1 éq) dans du dioxane anhydre (30 mL) est ajoutée une solution de glyoxalate d'éthyle à 50 % dans le toluène (14,2 mL, 60 mmol, 1,2 éq), puis du DABCO (600 mg, 0,09 éq). Le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant 24 h. Il est ensuite neutralisé par addition d'une solution de HCl 10 % (20 mL), et extrait à l'acétate d'éthyle (2x30 mL). Les phases organiques sont rassemblées, séchées sur MgSO₄ puis concentrées sous vide. Le produit de réaction est recueilli avec un rendement supérieur à 90 %.

REDUCTION

20 Dans un monocol de 250ml, placé sous argon, la cétone α,β insaturée (8g, 4,65.10⁻² mol) est solubilisée dans 200ml d'éthanol, puis le Pd/CaCO₃ (1,6g, 0.2eq) est introduit dans le mélange. Le système est purgé à l'hydrogène et agité en permanence sous pression d'hydrogène, à température ambiante 25 pendant 3h30.

Le milieu réactionnel est filtré sur Célite® et le filtrat est concentré sous pression réduite.

Le milieu réactionnel ainsi obtenu est engagé directement sans purification dans l'étape d'oxydation.

30

OXYDATION

Dans un monocol de 250ml flambé, placé sous argon, une solution de DMSO (2.6ml, 3,7.10⁻² mol) dans le CH₂Cl₂ (120ml) est refroidie à -60°C puis l'anhydride trifluoroacétique

(6.42ml, $3,3 \cdot 10^{-2}$ mol) est ajouté.. Après 10 minutes d'agitation à -60°C, la solution d'alcool (2g, $1,15 \cdot 10^{-2}$ mol) dilué dans un minimum de CH₂Cl₂ (12ml) est ajoutée goutte à goutte.

Le milieu réactionnel est agité à -60°C pendant 2h, puis la 5 triéthylamine (7.85ml, $7,5 \cdot 10^{-2}$ mol) est ajouté goutte à goutte.

Le système est agité à -60°C pendant 2h supplémentaires, puis laissé remonter à température ambiante.

10

On ajoute une solution tampon (25ml) de KCl 0.2M+ NaOH, pH=12.

Préparation du tampon : 25ml KCl 0,2M (373mg +25ml H₂O) + 6ml NaOH 0,2M (2ml NaOH 1M + 8ml H₂O).

On extrait la phase aqueuse avec du CH₂Cl₂, (2x 20ml), puis la 15 phase organique est séchée sur MgSO₄, reconcentrée sous pression réduite, et chromatographiée sur colonne de silice (système : Hexane/acétate d'éthyle 7/3)

Le produit X (1,5g) est isolé avec un rendement de 75%.

20

Analyses

COMPOSÉ X

2-Hydroxy-3-méthyl-4-oxo-pent-2-èneoate d'éthyle

25 C₈H₁₂O₄

CCM : R_f = 0,4 (AcOEt / hexane 20 : 80).

30 RMN ¹H (CDCl₃, 200 MHz) δ (ppm) : 1,36 (s, 6H), 1,97 (s, 3H), 2,23 (s, 3H), 4,23 (m, 4H).

RMN ¹³C (CDCl₃, 50 MHz) δ (ppm): 11,2; 13,7; 25,4; 61,7; 106,8; 162,9; 168,4; 200,5.

IR (ν en cm^{-1}) : 3452 (OH), 3054, 2987, 1731 (C=O), 1264, 742, 703.

5 SM (IC) m/z : [M+H]⁺ = 173.

T_db = 98 °C ; 0,5 mbar

Huile incolore

10

2-Hydroxy-4-oxo-hex-2-énoate d'éthyle

C₈H₁₂O₄

CCM : R_f = 0,4 (AcOEt / hexane 20 : 80).

15

RMN ¹H (CDCl₃, 200 MHz) δ (ppm) : 1,11 (t, ³J = 7,6 Hz, 3H), 1,31 (t, ³J = 7,1 Hz, 3H), 2,47 (q, ³J = 7,6 Hz, 3H), 4,28 (q, ³J = 7,1 Hz, 3H), 6,31 (s, 1H).

20 RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) δ (ppm) : 8,37; 13,8; 34,1; 62,3; 101,2; 162,0; 165,7; 200,5.

IR (ν en cm^{-1}) : 3452 (OH), 3054, 2987, 1739 (C=O), 1264, 742, 706.

25

SM (IC) m/z : [M+H]⁺ = 173.

Huile incolore

30

2-Hydroxy-4-oxo-pent-2-énoate d'éthyle

C₇H₁₀O₄

CCM : R_f = 0,5 (AcOEt / hexane 50 : 50).

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) δ (ppm) : 1,35 (t, $^3J = 7,2$ Hz, 2H), 2,24 (s, 3H), 4,32 (q, t, $^3J = 7,2$ Hz, 2H), 6,36 (s, 1H).

5 RMN ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz) δ (ppm) : 13,7; 27,2; 62,2; 101,8; 161,7; 166,7; 199,8.

IR (ν en cm^{-1}) : 3561 (OH), 2987, 1739 (C=O), 1643 (C=C), 1602, 1465, 1419, 1370, 1269, 1212, 1119, 1018, 910, 776, 732.

10

SM (IC) m/z : $[\text{M}+\text{NH}_4]^+ = 176$.

Liquide incolore

15

Exemple 2 : Formation du système isoxazole XI

Mode opératoire

20 Dans un ballon bicol de 250 mL, une solution de 20 mmol de composé X dans un mélange 1/1 d'éthanol anhydre/tétrahydrofurane anhydre (volume total = 54 mL) est préparée. Le mélange est placé sous agitation vigoureuse et sous argon. 1,6 g d'hydroxylamine chlorhydratée est ajouté par portions (une dizaine) pendant trois heures. Le mélange est laissé à température ambiante pendant vingt sept heures. Le brut réactionnel est dilué dans 180 mL de dichlorométhane et 110 mL d'une solution saturée de chlorure de sodium puis la phase aqueuse est extraite avec du dichlorométhane (2 x 110 mL). Les phases organiques sont rassemblées, séchées sur sulfate de magnésium puis concentrées sous vide pour donner un rendement isolé de 80 % en composé XI.

Analyses**Composé XI**

5 RMN ¹H (CDCl₃, 200 MHz) δ (ppm) : 1.36 (t, 3H), 2.07 (s, 3H),
2.33 (s, 3H), 4.37 (q, 2H)

10 RMN ¹³C (CDCl₃, 50 MHz) δ (ppm) : 7.3, 10.6, 14.1, 61.6, 111.2,
154.7, 160.9, 167.4

15 SM(IC) m/z : [M+H]⁺ = 170

GC/MS t_R = 8,17 min

20 Exemple 3 : Synthèse et réduction des intermédiaires du
15 système isoxazole (voir schéma figure 2)

Préparation d'une solution de Nickel de Raney dans l'éthanol
(Solution A)

25 Une solution commerciale de Nickel de Raney dans l'eau est
centrifugée pendant 5 minutes à la vitesse de 4200
tours/minute.

Le surnageant est éliminé et le solide lavé à l'eau distillée
puis centrifugé à nouveau.

30 Ce cycle de lavage est répété 5 fois puis l'eau est remplacée
par de l'éthanol afin d'obtenir, après 5 cycles de lavage et
élimination du surnageant, un volume de Nickel de Raney de 5
mL (~10g).

35 Ce volume de Nickel de Raney est alors dispersé dans 50 mL
d'éthanol pour obtenir une solution A de Nickel de Raney dans
l'éthanol.

Mode opératoire d'acétylation

-Synthèse de H-1', H-2' à partir de H-1, H-2

Dans un ballon monocole, H est placé dans l'anhydride acétique (concentration de 0,45 M) pendant cinq heures à 70 °C.

5 L'anhydride acétique est évaporée sous vide et le brut réactionnel est filtré sur silice avec un éluant Hexane/Acétate d'éthyle (8/2).

Le produit H' obtenu est cristallisé à froid dans un mélange Ether/Hexane avec un rendement de 90 %.

10

-Synthèse de l-1', l-2' à partir de l-1, l-2 et c-1', c-2' à partir de c-1, c-2

Dans un ballon monocole, l ou c est placé dans l'anhydride acétique (concentration de 0,45 M) pendant une heure à température ambiante. L'anhydride acétique est évaporée sous vide et le brut réactionnel est filtré sur silice avec un éluant Hexane/Acétate d'éthyle (8/2). Le produit pur l' ou c' est isolé à 98%.

20

Conditions réactionnelles C-SL

Conditions	I-1	I-2	I-3	I-4
NiR/H ₂ O EtOH/H ₂ O 50/50 TA	25	40	10	25
NiR/H ₂ O EtOH/H ₂ O 50/50 55°C	40	10	15	35
NiR/ DABCO EtOH	60	15	10	15
NiR/ HMTA EtOH	60	16	7	17
NiR/ Et ₃ N EtOH	33	30	10	27

Synthèse des lactones 1-1 à 1-4 avec obtention majoritaire de
1-2 par réduction de XI

Dans un ballon monocol de 5 mL sont introduits un mélange
5 équivolumique d'éthanol et d'eau (1mL), la solution A de Nickel de Raney dans l'éthanol (100 µL) et XI (30 mg, leq, $1,76 \cdot 10^{-4}$ mol). L'ensemble est refroidi à 0°C puis purgé à l'hydrogène.

Le milieu est agité sous pression d'hydrogène (1 atm) pendant
10 12 heures à température ambiante.

Le brut réactionnel est filtré sur célite et le mélange des quatre lactones obtenu de manière quantitative.

La lactone 1-2 (lactone de la 4-hydroxyisoleucine) est isolée par HPLC sur colonne de silice avec un rendement de 40%.

15

Synthèse des lactones 1-1 à 1-4 avec obtention majoritaire de
1-1 par réduction de XI

20 Dans un ballon monocol de 5 mL sont introduits l'éthanol (1mL), DABCO (10 mg), la solution A de Nickel de Raney dans l'éthanol (100 µL) et XI (30 mg, leq, $1,76 \cdot 10^{-4}$ mol). L'ensemble est porté à 0°C puis purgé à l'hydrogène.

Le milieu est agité sous pression d'hydrogène (1 atm) pendant
25 48 heures à température ambiante.

Le brut réactionnel est filtré sur célite et le mélange des quatre lactones obtenu de manière quantitative.

La lactone 1-1 est isolée par HPLC sur colonne de silice avec un rendement de 60%.

30

Synthèse des lactones 1-1 à 1-4 avec obtention majoritaire de
1-4 par réduction de XI

Dans un ballon monocol de 5 mL sont introduits un mélange
5 équivolumique d'éthanol et d'eau (1mL), la solution A de Nickel de Raney dans l'éthanol (100 µL) et XI (30 mg, leq, $1,76 \cdot 10^{-4}$ mol). L'ensemble est porté à 0°C puis purgé à l'hydrogène.

Le milieu est agité sous pression d'hydrogène (1 atm) pendant
10 12 heures à 55°C.

Le brut réactionnel est filtré sur Célite® et le mélange des quatre lactones obtenu de manière quantitative.

La lactone 1-4 est isolée par HPLC sur colonne de silice avec un rendement de 40%.

15 Les lactones 1-1', 1-2', 1-3' et 1-4' sont synthétisées par acétylation des différents bruts obtenus ci-dessus (Voir mode opératoire d'acétylation en page 21).

20 Conditions réactionnelles C-SH

Synthèse de H-2 par réduction de COMPOSÉ XI

Dans un ballon monocol de 5 mL sont introduits l'éthanol
25 (1mL), l'eau (50 µL), la solution A de Nickel de Raney dans l'éthanol (100 µL) et composé XI (30 mg, leq, $1,76 \cdot 10^{-4}$ mol). L'ensemble est porté à 0°C puis purgé à l'hydrogène.

Le milieu est agité sous pression d'hydrogène (1atm) pendant 24 heures à température ambiante.

30 Le brut réactionnel est purifié par chromatographie sur colonne de silice et H-2 isolé avec un rendement de 80%.

Conditions réactionnelles C-SC

Synthèse de c-1 et c-2 par réduction de COMPOSÉ XI

5

Conditions	c-1	c-2
NiR/DABCO EtOH	30	70
Pd/C/DABCO EtOH	50	50
Pd/C/Et ₃ N EtOH	70	30

10 Dans un ballon monocole de 5 mL sont introduits l'éthanol (1mL), la triéthylamine (50 µL), le palladium sur charbon (6 mg) et composé XI (30 mg, 1eq, $1,76 \cdot 10^{-4}$ mol).

L'ensemble est porté à 0°C puis purgé à l'hydrogène. Le milieu est agité sous pression d'hydrogène (1 atm) pendant 48 heures 15 à température ambiante.

Le brut réactionnel est filtré sur cérite et le mélange des deux diastéréoisomères obtenus dans un rapport 70/30.

Les deux diastéréoisomères c-1 et c-2 sont obtenus avec un rendement de 70%.

20

Les composés c-1' et c-2' sont synthétisés par acétylation des différents bruts obtenus ci-dessus (Voir mode opératoire d'acétylation en page 21).

5 Conditions réactionnelles C-HL

Synthèse de 1-1', 1-2', 1-3', et 1-4' par réduction de composé H-2'

Dans un ballon monocul de 5 ml sont introduits un mélange équivolumique d'éthanol et d'eau (300 µL), la solution A de Nickel de Raney dans l'éthanol (50 µL) et H-2' (10 mg, 1eq, $0,6 \cdot 10^{-4}$ mol). L'ensemble est porté à 0°C puis purgé à l'hydrogène.

Le milieu est agité sous pression d'hydrogène (1 atm) pendant 12 heures à température ambiante.

Le brut réactionnel est filtré sur Célite® et le mélange des quatre lactones obtenu de manière quantitative.

Les lactones 1-1', 1-2', 1-3', et 1-4' sont isolées par HPLC sur colonne de silice dans les proportions suivantes :

15

Conditions	1-1'	1-2'	1-3'	1-4'
NiR/H ₂ O EtOH/H ₂ O 50/50 TA	14	13	17	56

Conditions réactionnelles C-He

20

Synthèse de e-2' à partir de H-1' ou H-2'

Dans un tube préalablement flambé sous argon, le milieu réactionnel contenant 3 mg de [Ru(p-cym)₂Cl₂] (5 % mol), le ligand tosylé TsDPEN (1.05 équivalent/Ru), le solvant iPrOH (136 µL), et la triéthylamine (6.2 µL) est chauffé à 80 °C pendant deux heures. Puis le milieu est évaporé sous argon et laissé reposé à température ambiante.

Le substrat de départ (40 mg) est dissout dans HCOOH/NET₃ (5/2) (92 µL) et l'ensemble est introduit dans le tube contenant le catalyseur pendant 17 H 00 à température ambiante. Le brut

réactionnel est évaporé sous vide et filtré sur silice avec de l'acétate d'éthyle. Le produit e-2' est isolé avec un rendement de 90 %.

5

Synthèse de e-1' à partir de H-1' ou e-2' à partir de H-2'

Le substrat de départ est placé dans un ballon bicol sous argon dans un mélange éthanol/eau (1/1.5) à -15 °C. 1.5 équivalent de NaBH₄ et 1 équivalent de CeCl₃.7 H₂O sont ajoutés et le milieu est agité pendant 15 minutes. L'ajout de quelques gouttes d'acétone permet de neutraliser l'excès de NaBH₄.

Le brut réactionnel est dilué dans l'éther et une solution saturée de chlorure de sodium puis la phase aqueuse est extraite trois fois avec de l'éther. Les phases organiques sont rassemblées, séchées sur sulfate de magnésium puis concentrées sous vide pour donner un rendement isolé de 95 %.

20 Conditions réactionnelles C-Hc

Synthèse de c-1 et c-2 à partir de H-2

H-2 est placé sous hydrogène à 40 bars en présence de Pd/C (10 % en masse) et d'éthanol (0.1 M) pendant 27h à température ambiante. Le brut réactionnel est filtré sur célite et évaporé sous vide. Il est obtenu avec un rendement de 55 % avec un rapport c-1/c-2 de 70/30.

0

Synthèse de c-1' et c-2' à partir de H-2'

H-2' est placé dans l'éthanول* (0.1 M) avec 10 % en masse de Pd/C sous hydrogène à pression atmosphérique pendant 24 H 00.

Le brut réactionnel est filtré sur célite puis évaporé sous vide. Un mélange 1/1 de c-1' et c-2' est obtenu avec un rendement de 98 %. c-1' et c-2' sont séparés par HPLC selon la méthode décrite précédemment.

5

Conditions réactionnelles C-eL

10 Synthèse de l-1' à partir de e-2'

e-2' est placé dans l'éthanol (0.1 M) avec du nickel de raney commercial sous hydrogène à pression atmosphérique. Le brut réactionnel est filtré sur célite et évaporé sous vide. l-1' est obtenue avec un rendement de 75 %. Les 25 % restants sont un mélange de l-2', l-3', l-4'.

20 Synthèse de l-4' à partir de e-1'

e-1' est placé sous hydrogène dans l'éthanol (0.1 M) à pression atmosphérique en présence de nickel de raney commercial pendant 15 H 00. Le brut réactionnel est filtré sur Célite® et évaporé sous vide. l-4' est isolé avec un rendement de 85 %. Les 15 % restants représentent la lactone acétylée l-2'.

30 Conditions réactionnelles C-cL

Synthèse de l-2' à partir de c-1'

c-1' est placé dans l'éthanol (0.1 M) en présence de NaBH₄ (2 équivalents) pendant une heure à 0 °C. Le brut réactionnel est

dilué dans l'acétate d'éthyle et l'eau. La phase aqueuse est extraite avec l'acétate d'éthyle trois fois. Les phases organiques sont rassemblées, séchées sur sulfate de magnésium puis concentrées sous vide pour donner un rendement isolé de 5 75 % en lactone acétylé 1-2'. Les 25 % restants représentent la lactone 1-4'.

Synthèse de 1-4' à partir de c-1'

10 Dans un ballon monocole de 5 mL sont introduits un mélange équivolumique d'éthanol et d'eau (300 µL), la solution A de Nickel de Raney dans l'éthanol (50 µL) et c-1' (10 mg, 1eq, 0,6.10⁻⁴ mol). L'ensemble est porté à 0°C puis purgé à 15 l'hydrogène.

Le milieu est agité sous pression d'hydrogène (1 atm) pendant 12 heures à température ambiante.

Le brut réactionnel est filtré sur célite et le mélange des quatre lactones obtenu de manière quantitative.

20 La lactone 1-4' est isolée par HPLC sur colonne de silice avec un rendement de 75%. Les 25% restants représentent la lactone 1-2'.

Synthèse de 1-3' à partir de c-2'

25 Dans un ballon monocole de 5 mL sont introduits un mélange équivolumique d'éthanol et d'eau (300 µL), la solution A de Nickel de Raney dans l'éthanol (50 µL) et c-2' (10 mg, 1eq, 0,6.10⁻⁴ mol). L'ensemble est porté à 0°C puis purgé à 30 l'hydrogène.

Le milieu est agité sous pression d'hydrogène (1 atm) pendant 12 heures à température ambiante.

Le brut réactionnel est filtré sur célite et le mélange des quatre lactones obtenu de manière quantitative.

La lactone 1-3' est isolée par HPLC sur colonne de silice avec un rendement de 75%. Les 25% restants représentent la lactone 1-1':

5 Conditions réactionnelles I-HH

Synthèse de H-1' à partir de H-2'

Dans un tube préalablement flambé sous argon, le milieu réactionnel contenant 3 mg de [Ru(p-cym)₂Cl₂] (5 % mol), le 10 ligand tosylé TsDPEN (1.05 équivalent/Ru), le solvant iPrOH (136 µL), et la triéthylamine (6.2 µL) est chauffé à 80 °C pendant deux heures. Puis le milieu est évaporé sous argon et laissé reposé à température ambiante. H-2' est introduit dans l'éthanol (1.1 M) sur le catalyseur formé et le milieu est 15 laissé pendant 27 H 00 à température ambiante. Le brut réactionnel est évaporé sous vide puis filtré sur silice avec de l'acétate d'éthyle. H-1' est obtenu avec un rendement de 60 %.
20

Conditions réactionnelles I-cc

Synthèse de c-1' à partir de c-2'

c-2' est placé dans l'éthanol (0.1 M) avec 15 équivalents de triéthylamine à 80 °C pendant 24 H 00. Le brut réactionnel est évaporé sous vide et c-1' est isolé avec un rendement de 55 %.
25

30 Conditions HPLC

Séparation des quatre lactones 1-1', 1-2', 1-3' et 1-4'

La séparation des quatre lactones 1-1', 1-2', 1-3' et 1-4' est faite sur HPLC.

HPLC (*Gynkotek Gina 50*) et colonne *ZORBAX SIL 4.6 MM ID x 25cm* avec pour éluant un mélange Hexane/Ethanol 95/05 et un débit 5 de 8 mL/min.

Séparation des deux énantiomères de la lactone 1-2'

10

La séparation des deux énantiomères est faite sur HPLC chirale.

HPLC (*Shimadzu*) et colonne *CHIRALPAK AS* avec pour éluant un mélange Hexane/Ethanol 95/05.

15

Analyses

Les analyses GC/MS sont toutes faites sur le même type de matériel.

5

GC/MS (Shimadzu GCMS-QP5050A)

Colonne SGE CAPILLARY Silice 25m x 0,22mm BPX5 0,25

Gaz vecteur : hélium, débit 29 ml/min ; Pression : 118 kPa.

10 **Programme**

Interface : 260°C

Colonne : 80°C

Détecteur : 320°C

2 min à 80°C puis montée en température de 10°C /min

15

Les analyses HPLC sont toutes faites sur le même type de matériel.

HPLC (Gynkotek Gina 50) et colonne ZORBAX SIL 4.6 MM ID x 25cm

Eluant : Hexane/Ethanol 95/05. Débit : 8 mL/min

20

H-1'

RMN ¹H (CDCl₃, 200 MHz) δ (ppm) : 1.25 (t, 3H), 1.88 (s, 3H),

25 2.09 (s, 3H), 2.32 (s, 3H), 4.18 (q, 2H), 7.52 (s, 1H)

SM(IC) m/z : [M+H]⁺ = 214

GC/MS t_R = 12,15 min

30

H-2'

RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) δ (ppm) : 1.33 (t, 3H), 1.91 (s, 3H),
2.10 (s, 3H), 2.26 (s, 3H), 4.37 (q, 2H), 11.85 (s, 1H)

5 RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) δ (ppm) : 13.8, 14.7, 23.5, 29.7, 62,
110.1, 139.1, 164.2, 168.2, 203.8

SM(IC) m/z : [M+H] $^+$ = 214

GC/MS t_R = 12,15 min

10

H-2

15 RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) δ (ppm) : 1.36 (t, 3H), 2.07 (s, 3H),
2.24 (s, 3H), 4.32 (q, 2H), 7.51 (s, 1H)

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) δ (ppm) : 14, 14.9, 29.3, 62, 103.4,
145.3, 165, 202

20 SM(IC) m/z : [M+H] $^+$ = 172

GC/MS t_R = 9,38 min

C-1

25

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) δ (ppm) : 1.16 (d, 3H), 1.24 (t, 3H),
2.17 (s, 3H), 2.92 (m, 1H), 3.53 (d, 1H), 4.16 (q, 2H)

30 RMN ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz) δ (ppm) : 13.3, 14.1, 28.8, 50.3, 56.8,
61, 174.4, 210.2

SM(IC) m/z : [M+H] $^+$ = 174

GC/MS t_R = 7,50 min

C-2

5 RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) δ (ppm) : 1.11 (d, 3H), 1.25 (t, 3H),
2.20 (s, 3H), 2.92 (m, 1H), 3.86 (d, 1H), 4.16 (q, 2H)

10 RMN ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz) δ (ppm) : 10.8, 14.1, 28.2, 49.6, 55.3,
61.2, 174.2, 209.8,

15 SM(IC) m/z : [M+H] $^+$ = 174

GC/MS t_R = 7,60 min

15 C-1'

20 RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) δ (ppm) : 1.20 (d, 3H), 1.23 (t, 3H),
2.05 (s, 3H), 2.20 (s, 3H), 3.36 (m, 1H), 4.15 (q, 2H), 4.84
(m, 1H), 6.47 (d, 1H)

25 SM(IC) m/z : [M+H] $^+$ = 216

GC/MS t_R = 11,02 min

25

C-2'

30 RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) δ (ppm) : 1.16 (d, 3H), 1.26 (t, 3H),
1.99 (s, 3H), 2.23 (s, 3H), 3.07 (m, 1H), 4.19 (q, 2H), 4.84
(m, 1H), 6.31 (d, 1H)

SM(IC) m/z : [M+H] $^+$ = 216

GC/MS t_R = 11,50 min

e-1'

5

RMN 1H (CDCl₃, 300 MHz) δ (ppm) : 1.47 (d, 3H), 2.10 (s, 3H),
2.15 (s, 3H), 4.92 (q, 1H), 7.31 (s, 1H)

SM(IC) m/z : [M+H]⁺ = 170

10

e-2'

15 RMN 1H (CDCl₃, 300 MHz) δ (ppm) : 1.23 (d, 3H), 1.29 (t, 3H),
2.03 (s, 3H), 2.08 (s, 3H), 3.64 (s, 1H), 4.22 (q, 2H), 4.58
(m, 1H), 7.61 (s, 1H)

RMN ^{13}C (CDCl₃, 75 MHz) δ (ppm) : 13.6, 14.1, 19.5, 23, 61.2,
67.5, 121.6, 146.1, 165.2, 170.2

20

SM(IC) m/z : [M+H]⁺ = 216

e-1

25

RMN 1H (CDCl₃, 200 MHz) δ (ppm) : 1.4 (d, 3H), 1.84 (s, 3H),
3.39 (s, 3H), 4.79 (q, 1H),

SM(IC) m/z : [M+H]⁺ = 128

0

GC/MS t_R = 7,59 min

1-1'

RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) δ (ppm) : 1.22 (d, 3H), 1.44 (d, 3H),
2.02 (m, 1H), 2.08 (s, 3H), 4.16 (m, 1H), 4.53 (m, 1H)

5

SM(IC) m/z : [M+H] $^+$ = 172

HPLC: t_R = 27 min

10

1-2'

RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) δ (ppm) : 0.96 (d, 3H), 1.46 (d, 3H),
2.08 (s, 3H), 2.67 (m, 1H), 4.41 (m, 1H), 4.76 (m, 1H)

15

SM(IC) m/z : [M+H] $^+$ = 172

HPLC: t_R = 23,5 min

20

1-3'

RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) δ (ppm) : 1.16 (d, 3H), 1.32 (d, 3H),
2.07 (s, 3H), 2.55 (m, 1H), 3.07 (m, 1H), 4.19 (q, 2H), 4.84
25 (m, 1H), 6.31 (d, 1H)

SM(IC) m/z : [M+H] $^+$ = 172

1-4'

30

RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) δ (ppm) : 0.80 (d, 3H), 1.38 (d, 3H),
2.09 (s, 3H), 2.94 (m, 1H), 4.56 (m, 1H), 4.70 (m, 1H)

SM(IC) m/z : [M+H]⁺ = 172

HPLC: t_R = 19 min

5

1-1

SM(IC) m/z : [M+H]⁺ = 130

10 GC/MS t_R = 5,7 min

1-2

15 SM(IC) m/z : [M+H]⁺ = 130

GC/MS t_R = 6,22 min

20 1-3

SM(IC) m/z : [M+H]⁺ = 130

GC/MS t_R = 6,40 min

25

1-4

SM(IC) m/z : [M+H]⁺ = 130

30 GC/MS t_R = 6,69 min

Variante d'obtention à partir du composé X du composé IV ($R_1 = H$, $R_2 = benzyle$, $R_3 = méthyle$ et $R_4 = méthyle$).

5 Le composé X est placé dans un ballon bicol avec du tamis moléculaire activé dans l'éthanol anhydre. Le chlorydrate de la benzylamine est ajouté par portions (une dizaine) pendant trois heures. Le mélange est agité pendant 24h à température ambiante. Le brut réactionnel est filtré sur célite puis dilué
10 dans du dichlorométhane. La phase organique est lavée avec une solution saturée d'hydrogénocarbonate de sodium puis avec de l'eau. La phase organique est séchée sur sulfate de magnésium puis concentrée sous vide. Le brut est purifié sur chromatographie de silice pour donner un rendement de 50 %.

15

Analyses

RMN 1H ($CDCl_3$, 300 MHz) δ (ppm) : 1.27 (t, 3H), 1.82 (s, 3H),
2.17 (s, 3H), 4.27 (q, 2H), 4.32 (d, 2H), 7.31 (m, 5H)

20

RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 50 MHz) δ (ppm) : 13.9, 14.9, 28.6, 48.9, 61.7,
97.3, 127.2, 127.5, 128.6, 137.9, 153.0, 164.2, 199.7

SM(IC) m/z : [M+H] $^+$ = 261

15

Exemple de réduction asymétrique du composé H-2' en composés c-1' et c-2'

5 • Préparation du catalyseur

Dans un tube de Schlenk, préalablement purgé (vide-argon), on place sous argon le catalyseur avec son ligand, dans du méthanol. On laisse agiter pendant une vingtaine de minutes, 10 jusqu'à l'obtention d'un milieu limpide.

• Réduction

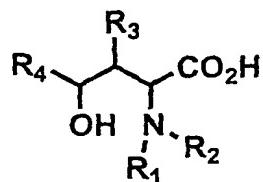
Le substrat est introduit dans l'autoclave avec un barreau aimanté et on introduit toujours sous argon la solution préparée ci-dessus. Le milieu réactionnel est laissé sous agitation pendant 17 H sous hydrogène à 50 bars.

Le méthanol est évaporé et du dichlorométhane est introduit. On ajoute du charbon actif et on agite 15 minutes environ. Le 20 milieu est filtré sur Célite® et évaporé. Le brut obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice.

Catalyseur (%mol) Ligand (1.2 eq/cat)	Rendement	Proportions c-1'/c-2'	Rapport en énantiomères de c-2'
Rh(cod) ₂ BF ₄ (4 mol %) + Phanephos	79 %	25/54	90/10
Rh(cod) ₂ BF ₄ (4 mol %) + Binap	66 %	18/48	66/34
Rh(cod)DipampBF ₄ (4 mol %)	40 %	0/40	96/4

REVENDICATIONS

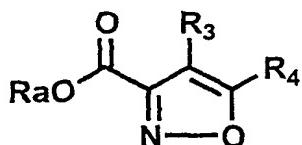
1. Procédé de préparation de diastéréoisomères et d'énanthiomères de la 4-hydroxyisoleucine et de ses dérivés de
5 formule générale I



I

dans laquelle R_1 et R_2 représentent

- 10 .un atome d'hydrogène, ou
 .l'un de R_1 ou R_2 représente un atome d'hydrogène et l'autre substituant est un radical R_a , un groupe acyle $-\text{COR}_a$, notamment acétyle, ou encore un groupe fonctionnel $-\text{COOR}_a$, $-\text{SO}_2\text{R}_a$, $-\text{N}(\text{R}_a, \text{R}_b)$, R_a et R_b , identiques ou différents, étant un radical alkyle linéaire ou ramifié en C1-C12, le cas échéant substitué, un groupe aryle à un ou plusieurs cycles aromatiques, comportant 15 5 à 8C, le cas échéant substitué, ou aralkyle, le substituant alkyle et le groupe aryle étant comme défini ci-dessus, ou
 . R_1 et R_2 représentent tous deux un substituant tel que défini 20 ci-dessus,
 caractérisé en ce qu'il comprend la réduction d'un dérivé d'isoxazole de formule II



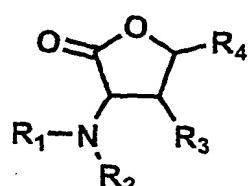
II

dans laquelle

- . R_a est tel que défini ci-dessus, et
- . R_3 représente un atome d'hydrogène ou R_a , et
- 5 . R_4 présente les significations de R_a , à l'exception d'un atome d'hydrogène,

dans des conditions conduisant directement aux dérivés de formule I, ou à l'obtention d'au moins une lactone de structure III

10

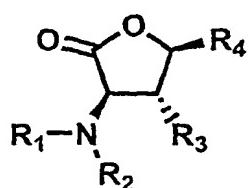


III

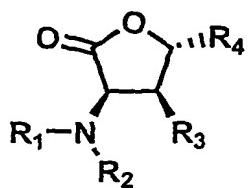
sous forme(s) racémique(s), ou d'un mélange énantiomériquement enrichi, suivie de l'ouverture, en conditions basiques, dans 15 un solvant aprotique ou protique, de la lactone ou des lactones recherchées et, si nécessaire, de la séparation de la forme recherchée.

2. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'on 10 effectue l'ouverture du cycle lactone à l'aide de LiOH dans THF.

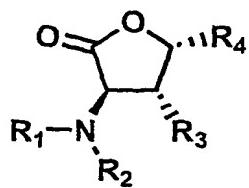
3. Procédé selon la revendication 1 ou 2, caractérisé en ce que la lactone de structure III est obtenue par réduction 5 dudit dérivé d'isoxazole de formule II, conduisant à l'obtention d'un mélange renfermant 4 lactones L-1, L-2, L-3 et L-4 :



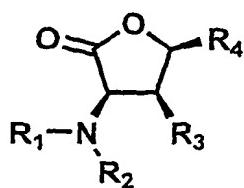
L-1



L-2



L-3



L-4

4. Procédé selon la revendication 3, caractérisé en ce que dans le cas où R₃ est un atome d'hydrogène dans l'isoxazole de formule II, on introduit ultérieurement un groupe R_a au niveau des produits intermédiaires obtenus.

5. Procédé selon la revendication 1 ou 2, caractérisé en ce qu'on sépare la lactone ou les lactones recherchées sous forme racémique ou énantiomériquement pure, l'obtention de l'une des lactones et/ou de l'un des énantiomères étant favorisée par le catalyseur et les conditions utilisées.

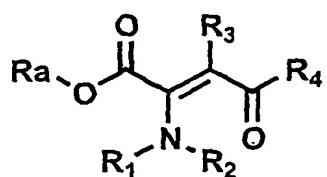
6. Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que les lactones dans lesquelles R₁ et/ou R₂ représentent un atome d'hydrogène sont substituées, notamment alkylées, carbamylées, sulfonylées, ou acylées, notamment acétylées.

7. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'il comprend la réduction d'une isoxazole de formule II dans laquelle OR_a représente un groupe hydrogénolysable, tel que le groupe benzyle, cette étape de réduction étant réalisée en milieu basique lorsque R_a est différent d'un groupe benzyle.

5

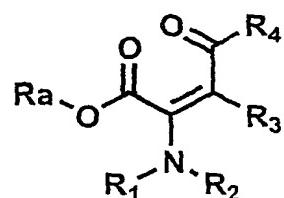
8. Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce qu'on isole les produits intermédiaires formés lors de l'étape de réduction du dérivé d'isoxazole de formule II.

9. Procédé selon la revendication 3, caractérisé en ce qu'on opère dans un milieu éthanol/eau, auquel on ajoute une solution de Nickel de Raney dans l'éthanol et le dérivé d'isoxazole de formule II, et on purge à l'hydrogène, le 5 milieu réactionnel étant ensuite agité sous une pression d'hydrogène de l'ordre de 1 atmosphère à température ambiante, ce qui conduit aux dérivés IV et V :



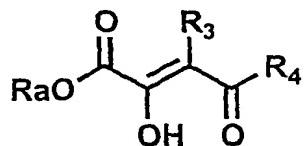
IV

10



V

les composés IV et V pouvant être obtenus, en variante, 15 directement à partir du composé de formule VI.

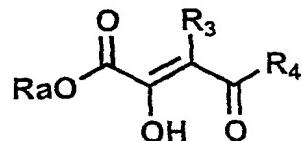


VI

10. Procédé selon la revendication 9, caractérisé en ce qu'on soumet le composé V à l'action d'un catalyseur de réduction, dans un solvant, en présence d'une source d'hydrogène.

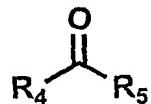
5 11. Procédé selon la revendication 9, caractérisé en ce qu'on soumet le composé IV ou V à l'action d'un catalyseur de réduction homogène, d'un ligand chiral ou achiral, en présence d'un solvant organique, de triéthylamine et d'une source d'hydrogène, ou en variante on soumet les composés IV ou V à une réduction dans un mélange éthanol/eau en présence de NaBH₄ et de CeCl₃.7H₂O.

12. Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que le dérivé d'isoxazole de formule II est obtenu par réaction d'une hydroxylamine avec un dérivé d'acide 4-céto-2-hydroxy-2-buténoïque de formule VI :

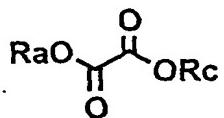


VI

20 13. Procédé selon la revendication 12, caractérisé en ce que le dérivé d'acide 4-céto-2-hydroxy-2-buténoïque est obtenu par condensation d'une cétone VII et d'un dérivé d'oxalate VIII :



VII

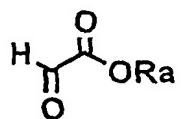
**VIII**

dans ces formules, R_5 représente un radical alkyle, tel qu'éthyle ou méthyle, alkylaryle, vinyle, ou vinyle substitué,
 5 R_4 et R_a sont tels que définis ci-dessus, R_c présente les significations données par R_a et peut être est identique ou différent de R_a .

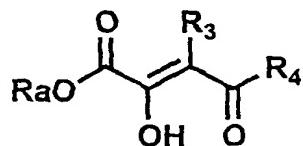
14. Procédé selon la revendication 13, caractérisé en ce qu'on
 10 utilise, comme cétone, la butanone.

15. Procédé selon la revendication 13, caractérisé en ce que la cétone utilisée est l'acétone, ce qui conduit au dérivé d'acide 4-céto-2-hydroxy-2-buténoïque de formule VI, dans
 15 laquelle R_3 est un atome d'hydrogène et R_4 représente CH_3 .

16. Procédé selon la revendication 13, caractérisé en ce que l'acide 4-céto-2-hydroxy-2-buténoïque de formule VI est obtenu en opérant selon la réaction de Baylis-Hillmann, en faisant
 20 réagir la méthylvinylcétone sur un glyoxalate de formule IX,

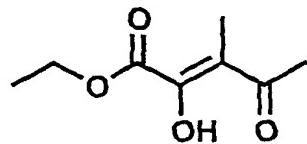
**IX**

suivie soit d'une étape d'isomérisation en composé VI, en
 5 présence de catalyseur de métaux de transition,

**VI**

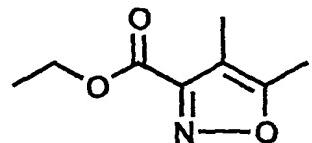
17. Procédé pour la préparation de la (2S, 3R, 4S)-4-hydroxyisoleucine, caractérisé en ce qu'il comprend les étapes
5 de

a) synthèse d'un ester d'acide pent-2-ènoïque de formule X

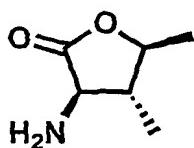
**X**

10 soit par réaction de la butanone avec l'oxalate d'éthyle,
soit par condensation de la méthylvinylcétone avec le
glyoxalate d'éthyle, suivie, sans purification, d'une
réaction d'isomérisation ou d'une séquence
réduction/oxydation;

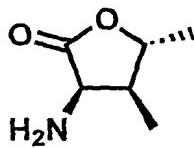
15 b) l'ester d'acide pent-2-ènoïque obtenu réagit avec de
l'hydroxylamine pour former le dérivé d'isoxazole de formule
XI,

**XI**

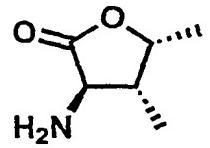
c) la réduction du dérivé d'isoxazole obtenu pour conduire à aux lactones I-1 à I-4,



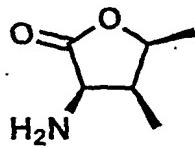
I-1



I-2



I-3



I-4

5

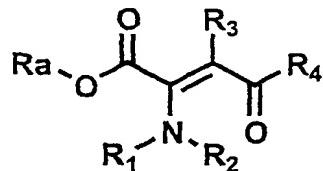
d) la séparation de la lactone I-2 à I-4 sous forme racémique, suivie de

e) la séparation de l'énanthiomère, conduisant au composé A
10 par ouverture de la lactone et de
f) l'ouverture du cycle lactone.

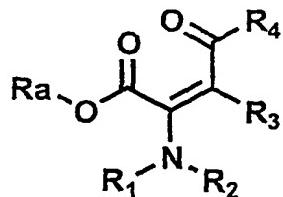
18. En tant que nouveaux produits,

. les composés intermédiaires de formules IV et V,

15



IV

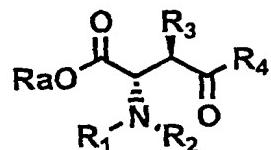


V

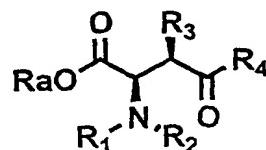
dans lesquelles l'un de R_1 et R_2 représente H, l'autre étant différent de H,

les composés correspondant à C-1 et C-2, de formules

5



C-1

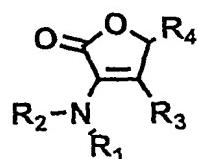


C-2

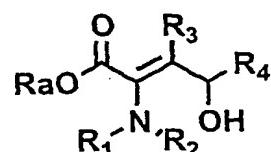
10 les substituants étant tels que définis ci-dessus quels que soient R_1 et R_2 ,

les composés E-1 et E-2, répondant aux formules

(5)



E-1



E-2

dans lesquelles les substituants sont tels que définis ci-dessus en rapport avec les formules IV et V.

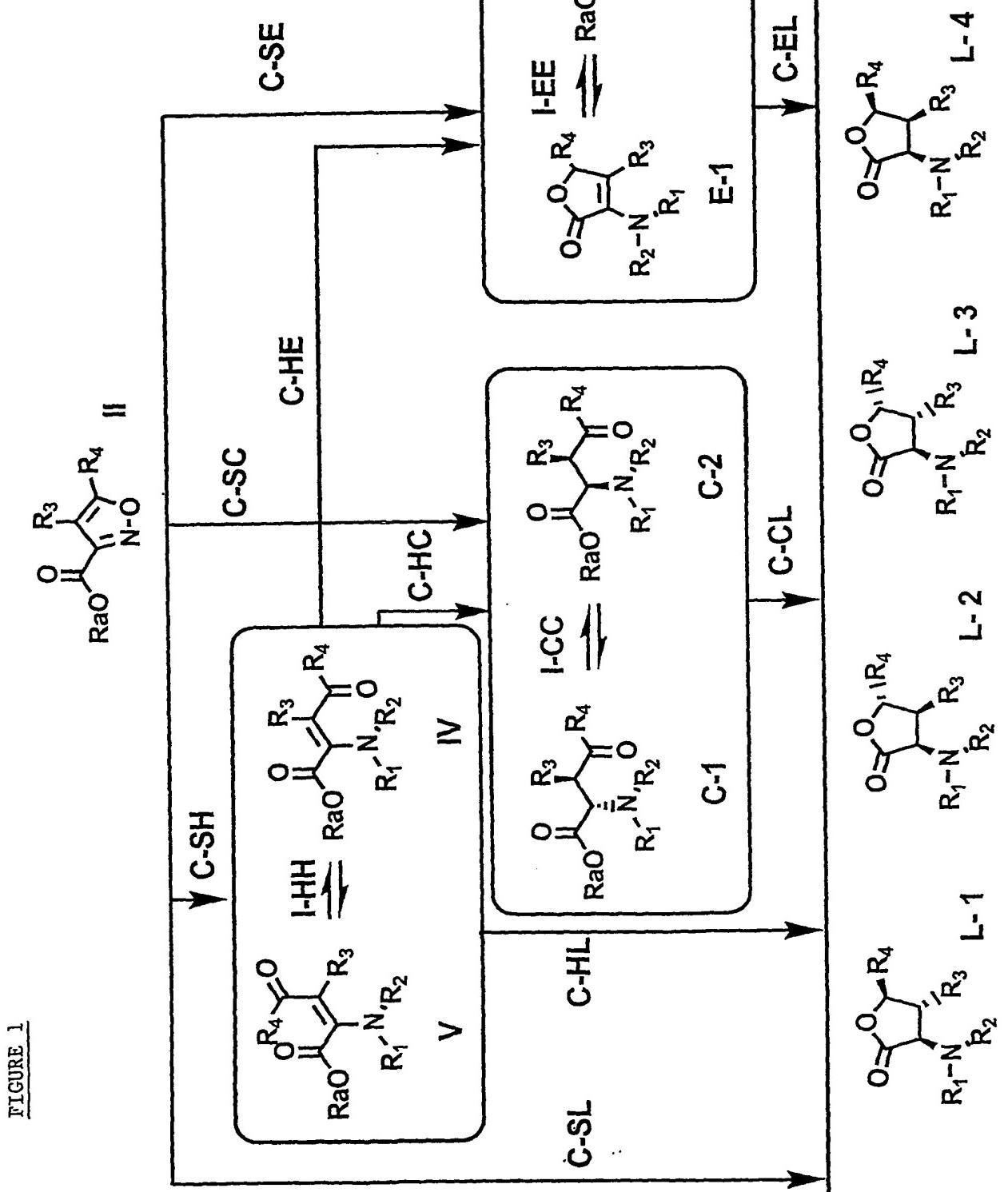
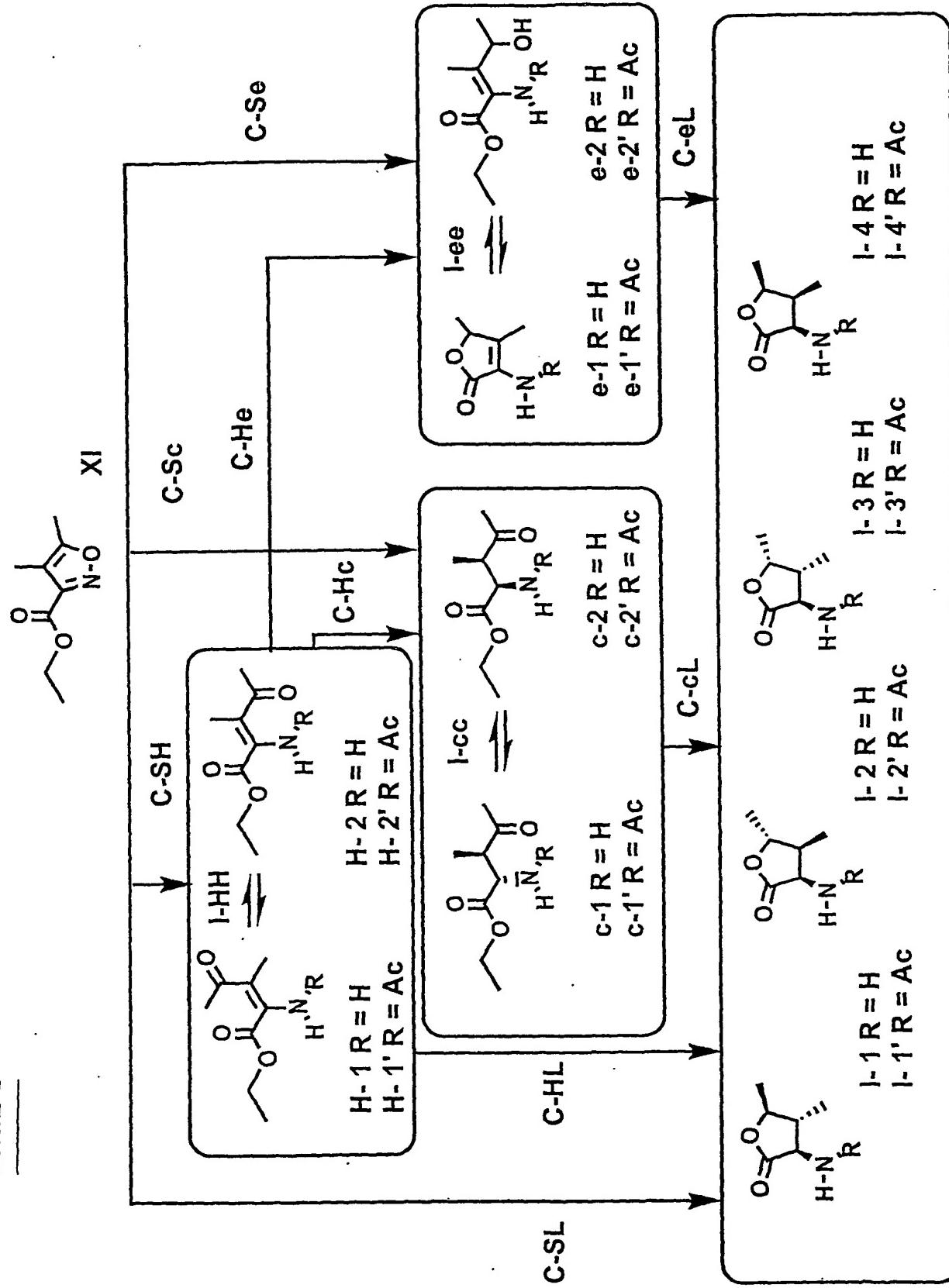


FIGURE 2



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 03/03542

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C07C229/22 C07C227/32 C07C239/18 C07D307/66 C07C227/32
 C07C229/22 C07D307/66

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C07C C07D

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BEILSTEIN Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CAPLAN J F ET AL: "Vinylogous Amide Analogues of Diaminopimelic Acid (DAP) as Inhibitors of Enzymes Involved in Bacterial Lysine Biosynthesis" ORGANIC LETTERS, vol. 2, no. 24, 10 November 2000 (2000-11-10), pages 3857-3860, XP002247986 WASHINGTON DC Scheme 2, préparation du composé 12 ----- -/-	1-18



Further documents are listed in the continuation of box C.



Patent family members are listed in annex.

° Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the International filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the International filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the International filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the International search

2 April 2004

Date of mailing of the International search report

15/04/2004

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
 Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Österle, C

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 03/03542

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	BÜCHI G & VEDERAS J C: "Interchange of Functionality in Conjugated Carbonyl Compounds through Isoxazoles" JOURNAL OF THE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, vol. 94, no. 24, 27 December 1972 (1972-12-27), pages 9128-9132, XP002247987 WASHINGTON DC Page 9129, Schéma, Réaction 3 --> 6 _____	1-18

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande Internationale No

PCT/FR 03/03542

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE

CIB 7	C07C229/22	C07C227/32	C07C239/18	C07D307/66	C07C227/32
	C07C229/22	C07D307/66			

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 7 C07C C07D

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BEILSTEIN Data

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie °	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	<p>CAPLAN J F ET AL: "Vinylogous Amide Analogues of Diaminopimelic Acid (DAP) as Inhibitors of Enzymes Involved in Bacterial Lysine Biosynthesis" ORGANIC LETTERS, vol. 2, no. 24, 10 novembre 2000 (2000-11-10), pages 3857-3860, XP002247986 WASHINGTON DC Schème 2, préparation du composé 12</p> <p>-----</p> <p>-/-</p>	1-18

Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

- *A* document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- *E* document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- *L* document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- *O* document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- *P* document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

- *T* document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
- *X* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
- *Y* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
- *&* document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

2 avril 2004

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

15/04/2004

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale
 Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
 Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Österle, C

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande Internationale No

PCT/FR 03/03542

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	BÜCHI G & VEDERAS J C: "Interchange of Functionality in Conjugated Carbonyl Compounds through Isoxazoles" JOURNAL OF THE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, vol. 94, no. 24, 27 décembre 1972 (1972-12-27), pages 9128-9132, XP002247987 WASHINGTON DC Page 9129, Schéma, Réaction 3 → 6 -----	1-18